

УДК 616.127-005.8+616.15-008.1

DOI: 10.15587/2519-4798.2017.109123

## ВПЛИВ ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНУ ITGA2 НА ТРОМБОЦИТАРНУ ЛАНКУ ГЕМОСТАЗУ У ХВОРИХ З ГОСТРИМ КОРОНАРНИМ СИНДРОМОМ

© А. В. Ляхощка

*Відомо, що мутація С807 в гені ITGA2 асоційована з ризиком розвитку раннього інфаркту міокарда, ішемічного інсульту, тромбоемболії, тромбозів після ангіопластики та стентування коронарних артерій. У дослідженні представлені результати аналізу поліморфізму інтегрованого рецептора тромбоцитів глікопротеїну GPIa у пацієнтів з гострим коронарним синдромом*

**Ключові слова:** гострий коронарний синдром, поліморфізм гена ITGA2, резистентність, агрегація, інфаркт міокарда, тромбоцити

### 1. Вступ

Ішемічна хвороба серця (ІХС) за даними на 2014 рік є одним із найбільш поширених захворювань та посідає перше місце в структурі смертності і тимчасової втрати працездатності від серцево-судинних захворювань дорослого населення країн Європи, в тому числі України [1]. Згідно офіційної статистики МОЗ України в 2016 році зареєстровано 7 794 938 осіб з ІХС [2]. Висока захворюваність, значна поширеність, що призводить до тривалої госпіталізації, ранньої інвалідизації і передчасної смерті хворих, пояснює велику соціальну значущість ІХС і той інтерес, який проявляється до її вивчення як представниками теоретичних дисциплін, так і клініцистами. Більше половини усіх смертей хворих на ІХС виникає під час гострих станів. Гострий коронарний синдром (ГКС) та/або гострий інфаркт міокарда (ГІМ) із зубцем Q виникає внаслідок розвитку гострої коронарної недостатності, яка провокується розривом атеросклеротичної бляшки з наступним формуванням тромбу. Власні процеси тромбоутворення можуть призводити як до утворення червоного оклюзуючого тромбу, який обумовлює розвиток ГІМ, так і супроводжуватись активацією лише тромбоцитарної ланки гемостазу з формуванням білого неоклюзуючого тромбу, який відповідає за зворотні гострі коронарні події [3].

ІХС має генетичну складову, яка реалізується через поліморфізм генів-кандидатів, які відповідають за гіперхолестеринемію, атеросклеротичні ураження судин, особливості гемостазу та метаболічні порушення в організмі. До числа генів-кандидатів, наявність яких у генотипі пов'язана з ускладненим перебігом ІХС, входить ген ITGA2, який забезпечує синтез інтегрованих рецепторів тромбоцитів при незворотній їх активації [4]. Інтегрини являють собою сімейство гетеродимерних білків, молекула яких складається з ковалентно пов'язаних  $\alpha$ - та  $\beta$ -субодиниць, які формують трансмембранні білки [5]. Інтегрин  $\alpha$ -2 (ITGA2), відомий також як GPIa (або very late activation protein (VLA)), – це мембранний глікопротеїн, який еспресується на поверхні різних клітин та утворює комплекси з іншими білками. Він кодується геном ITGA2. Комплекс GPIa

та GPIIb (ITGB1) є одним з рецепторів колагену, розташованих на клітинній мембрані тромбоцитів, а також ряду клітин, включаючи фібробласти та мегакаріоти. Підвищена експресія клітинних рецепторів GPIa/IIb виявлена на поверхні тромбоцитів у гомозигот по алелю Т (генотип Т/Т), в той час як у гомозигот по алелю С (генотип С/С) спостерігалось зниження експресії. Наявність Т-алелю асоціюється зі збільшенням швидкості адгезії тромбоцитів, що може бути фактором ризику тромбофілії. Виявивши генотип за даним маркером, можна оцінити генетичну схильність до інфаркту міокарда та інсульту [6].

### 2. Обґрунтування дослідження

Існує велика категорія хворих, у яких, незважаючи на прийом антитромбоцитарних препаратів, виникають ішемічні ускладнення. Однією з причин є генетична схильність до тромбоутворення, а саме мутація С807 в гені ITGA2. Завдяки вивченню геному ITGA2 та виявленню в ньому змін внаслідок мутацій, встановлюють підвищену здатність до адгезії тромбоцитів. На основі результатів дослідження проводять ряд лікувально-профілактичних заходів, спрямованих на попередження розвитку тяжких ускладнень. Отримання даних дослідження С/С свідчить про нормальну адгезію тромбоцитів, С/Т – про схильність до посилення процесів утворення первинного тромбу, Т/Т – вказує на можливу надмірну здатність до адгезії кров'яних пластин. Інтерпретація аналізів проводиться разом з іншими методами дослідження: анамнестичними, клінічними, лабораторними [7].

Мутація гена ITGA2 обумовлює заміну нуклеотидів в певній ділянці ДНК – замість цитозину з'являється тимін. Це викликає зміни структури білкового рецептору інтегрину альфа-2, що збільшує здатність та швидкість адгезії тромбоцитів. Генетична мутація обумовлює підвищене тромбоутворення в організмі та пов'язані з цим патологічні процеси [8].

Дослідження проводять в таких випадках: виявлення ризику інфаркту міокарда в молодому віці; виявлення факторів схильності до інсульту головного мозку; вивчення вірогідності появи тромбоемболічних ускладнень; контроль можливих тромбозів

після оперативних втручань на судинах (ангіопластика, стентування коронарних артерій).

Своєчасна діагностика поліморфізму гену ITGA2 дозволяє застосовувати профілактичні заходи для виключення розвитку патологічного процесу та визначити доцільність застосування посиленої антитромбоцитарної терапії у хворих з ІХС.

Виявлення ризику ішемічної та тромбоемболічної патології потребує призначення профілактичного лікування, зміни способу життя, корекції харчування [9].

### 3. Мета дослідження

Вивчити та оцінити агрегаційну активність тромбоцитів, як первинної ланки гемостазу, у хворих з ГКС залежно від поліморфізму гену ITGA 2 – С 807Т.

### 4. Матеріали та методи

У процесі дослідження було обстежено 72 хворих, які знаходилися на лікуванні у відділенні гострої коронарної патології Клінічної Лікарні «Феофанія» та у відділенні кардіології Київської клінічної лікарні на залізничному транспорті № 2 з 2014 по 2016 р.: 27 жінок (37,5 %) і 45 чоловіків (62,5 %) у віці від 56 до 87 років (середній вік –  $68,1 \pm 7,34$  роки). У дослідження залучалися хворі на ГКС, який розвинувся на тлі гіпертонічної хвороби. Тактика лікування визначалась з урахуванням часового фактору, показань та протипоказань до різних способів відновлення прохідності коронарної артерії, 32-м пацієнтам також було проведено коронарвен-трикулографію та стентування.

На основі результатів генотипування та відповідно до мети обстеження всі хворі були розподілені на три групи: до I увійшло 20 пацієнтів (27,8 %) з генотипом С/С, II групу склали 29 пацієнтів (40,3 %) з генотипом С/Т і III група включила в себе 23 пацієнта (31,9 %) з генотипом Т/Т. Групу контролю склали 15 практично здорових осіб, співставних за віком та статтю.

При обстеженні хворих використовувалась алгоритмізована стандартна тематична карта, яка включала розділи анамнезу, загального клінічного, інструментального та лабораторного дослідження.

Вивчення гемостатичних параметрів у венозній крові проводилось одразу при надходженні хворого у відділення. Вивчення функціональної активності тромбоцитів здійснювалось на лазерному агрегометрі Biola Aggregation Analyser з комп'ютеризованим аналізом кривих світлопропускання та особливостей агрегатів тромбоцитів. При цьому вивчали наявність спонтанної агрегації тромбоцитів та стимульовану агрегацію з індукторами: арахідонова кислота (АК), аденозиндифосфат (АДФ), колаген, адреналін. Концентрації індукторів обирались згідно рекомендованих стандартів, при цьому застосовувались найменші ефективні концентрації, які викликали агрегацію, що підвищувало чутливість даного методу у визначенні функціональної активності тромбоцитів.

Для молекулярно-генетичного аналізу використовували зразки ДНК пацієнтів, виділені з венозної крові сорбентним методом. Поліморфізм С807Т гена ITGA2 визначали методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) з використанням двопраймерної системи.

Для вирішення поставлених при виконанні роботи задач застосовувались загальноклінічне та інструментальне обстеження хворих з наступною статистичною обробкою одержаних результатів. Використовувались параметричні та непараметричні методи: Краскела Уолліса та Манна-Уїтні [10].

### 5. Результати дослідження

Генотипування хворих дозволило виявити, що у 29 з 72 пацієнтів з ГКС було виявлено генотип ITGA 2 С/Т – 40,3 %, генотип Т/Т було виявлено у 23 пацієнтів (31,9 %) (рис. 1). Таким чином у 72,1 % хворих з гострим порушення коронарного кровообігу спостерігалася мутація ITGA 2 – Т, гену відповідального за адгезію тромбоцитів. Враховуючи роль тромбоцитарної складової гемостазу у виникненні коронарних подій дана знахідка може підтверджувати важливість генетичної схильності до активації початкових ланок тромбоутворення у розвитку одного із найбільш важких тромботичних ускладнень гіпертонічної хвороби – ГКС.

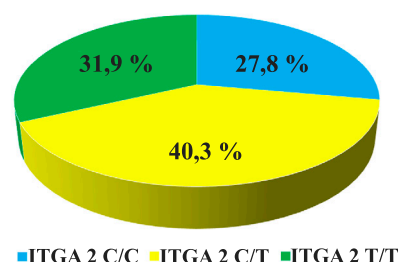


Рис. 1. Розподіл генотипів серед обстежених хворих

Для підтвердження ролі генотипу ITGA 2 у процесах гемокоагуляції було проведено дослідження агрегаційної здатності тромбоцитів у групах, сформованих відповідно до виявлених генотипів (С/С, С/Т, Т/Т).

Дослідження агрегаційної здатності в досліджуваних групах, дозволило встановити, що у пацієнтів всіх груп ступінь спонтанної агрегації статистично значимо перевищував межі контролю (табл. 1), при цьому найбільші показники були зафіксовані у групі з Т/Т генотипом, що перевищувало контрольні значення в 3,02 рази ( $p=0,000033$ ). Слід зазначити, що носійство Т-алеля гену ITGA 2 асоціювалося із тенденцією до зростання спонтанної агрегації відносно С/С генотипу на 34,5 % у групі С/Т ( $p=0,11$ ) та достовірним збільшенням спонтанної агрегації у групі Т/Т генотипу, як відносно групи С/Т (на 33 %,  $p=0,00033$ ) так і відносно групи С/С (на 78,9 %,  $p=0,000475$ ).

Аналізуючи агрегаційну здатність тромбоцитів з індукторами (АДФ та АК), різницю у чутли-

вості тромбоцитів було відмічено тільки стосовно АК-індукованої агрегації. Так, у групі хворих з Т/Т генотипом ступінь цієї агрегації перевищував показники С/С групи на 17,3 %, а показники С/Т групи – на 16,5 % ( $p < 0,05$  в обох випадках), при цьому суттєвої різниці між групами з С/С та С/Т генотипами виявлено не було. Отже, можна припустити, що на чутливість тромбоцитів до АК впливає тільки гомозиготність по Т-алелю, а не взагалі її носійство. Цікаво, що будь-яких змін в реакції тромбоцитів на мінімальні концентрації АДФ не було знайдено ані між групами хворих, ані при порівнянні цих груп із контролем.

Аналізуючи ступінь колаген-індукованої агрегації у групах, відмічено, що найбільші показники були зафіксовані у групі з Т/Т генотипом – в 1,68 раз вище за групу контролю ( $p = 0,001$ ). Носійство Т-алелю також спричинило зростання індукованої агрегації з колагеном відносно С/С генотипу на 17 % у групі С/Т ( $p = 0,06$ ) та достовірним збільшенням у групі Т/Т генотипу, як відносно групи С/Т (43 %,  $p = 0,001$ ) так і відносно групи С/С (на 66 %,  $p = 0,06$ ).

хворих узгоджуються із даними літератури відносно розповсюдження поліморфізму ITGA 2 у популяції [6].

Відомо, що збільшення функціональної активності тромбоцитів прискорює процес тромбоутворення в коронарних судинах. Значно збільшені показники спонтанної агрегації тромбоцитів, отримані в дослідженні, особливо в групах з наявністю Т-алелю, свідчать про потенційну схильність у них тромбоцитів до «злипання». Застосовані у роботі найменші ефективні концентрації індукторів агрегації дозволили виявити особливості змін тромбоцитарної функції за умов попереднього лікування пацієнтів антиагрегантними препаратами. Так, було виявлено, що у пацієнтів з Т/Т генотипом навіть на фоні прийому антитромбоцитарних засобів зберігається достатньо висока реакція тромбоцитів на колаген, яка на 68,7 % перевищує результати контрольної групи ( $p = 0,001$ ) та на 63,9 % є більшою за пацієнтів з С/С генотипом ( $p = 0,000003$ ). Таким чином, за умов пошкодження атеросклеротичної бляшки, що є основною складовою етіопатогенезу ГКС, тромбоцити пацієнтів з Т/Т генотипом виявляються надзвичайно чутливими до колагену субендотеліального прошарку, який оголюється.

Таблиця 1

Функціональна активність тромбоцитів залежно від генотипу ITGA2

Показник	Контроль	С/С (1)	С/Т (2)	Т/Т (3)	Р 1-2	Р 2-3	Р 1-3
Ступінь спонтанної агрегації, %	0,84±0,34	1,42±0,66***	1,91±0,79**	2,54±0,98***	>0,05	<0,05	<0,05
Ступінь АДФ індукованої агрегації, %	34,57±5,3	36,49±3,17	35,06±3,63	35,30±3,21	>0,05	>0,05	>0,05
Ступінь АК індукованої агрегації, %	28,48±4,96	27,74±3,12	27,93±3,33	32,51±6,06	>0,05	<0,05	<0,05
Ступінь колаген-індукованої агрегації, %	20,99±4,72	21,26±2,62	24,62±3,93*	35,43±9,94***	<0,05	<0,05	<0,05
Ступінь адреналін-індукованої агрегації, %	18,87±9,72	19,5±6,26	20,55±6,09	21,24±3,61	<0,05	>0,05	>0,05

Примітки: \* –  $p < 0,05$  відносно групи контролю; \*\* –  $p < 0,01$  відносно групи контролю; \*\*\* –  $p < 0,001$  відносно групи контролю

## 6. Обговорення результатів дослідження

Комплекс проведених обстежень дозволив показати, що тільки 27,9 % пацієнтів з ГКС мають С/С генотип гену ITGA 2. Враховуючи наявні дані щодо впливу носійства Т-алелю на частоту виникнення тромботичних ускладнень, знайдений розподіл генотипів у пацієнтів з порушеннями коронарного кровообігу можна вважати очікуваним, тим більше що знайдені особливості розподілу генотипів серед

хворих із серцевою патологією.

Слід зазначити, що у проведених раніше дослідженнях вказувалось на вищий ризик розвитку ішемічного інсульту у пацієнтів з Т/Т генотипом [11], а також вищі рівні холестерину, ліпопротеїдів низької щільності, що разом із збільшеною агрегацією тромбоцитів та їх підвищеною чутливістю до колагену може пояснювати віднесення Т/Т генотипу до ризик факторів виникнення тромботичних подій у хворих із серцевою патологією.

## 7. Висновки

1. Розвиток ГКС асоціюється із наявністю Т-алелю гену ITGA 2, яке спостерігається у 72,1 % хворих.

2. Наявність Т-алелю поєднується із прискоренням спонтанної агрегації тромбоцитів, збільшуючи їх функціональну активність у хворих з Т/Т генотипом в 3 рази відносно групи контролю та на 79 % відносно гомозигот з «нативним» С/С генотипом.

3. Тромбоцити хворих – носіїв Т/Т генотипу мають підвищену чутливість до колагену, навіть за умов застосування низьких концентрацій індуктора, що слід враховувати при персоніфікації лікувальної тактики.

## Література

1. Нетяженко, Н. В. Відмінності ішемічної хвороби серця у жінок та чоловіків [Текст] / Н. В. Нетяженко // Український науково-медичний молодіжний журнал. – 2014. – № 4. – С. 95–100.
2. Показники здоров'я населення та використання ресурсів охорони здоров'я в Україні за 2016 р. [Текст]. – Міністерство охорони здоров'я України, ДЗ «Центр медичної статистики».

3. Амосова, К. М. Проспективне дослідження перебігу і найближчих наслідків гострого коронарного синдрому без елевачії сегмента ST у хворих з аспіринорезистентністю за даними оцінки агрегації тромбоцитів з арахідоновою кислотою [Текст] / К. М. Амосова, Н. В. Нетяженко // Серце і судини. – 2009. – № 3. – С. 55-63.
4. Овсянникова, А. Н. Анализ полиморфизма генов системы гемостаза в развитии острой ишемии мозга у пациентов молодого и среднего возраста [Электронный ресурс] / А. Н. Овсянникова, В. В. Машин, Л. А. Белова, Ю. В. Саенко, Н. Р. Васицкий, В. В. Абрамова // Современные проблемы науки и образования. – 2014. – № 5. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=22566922>
5. Зотова, Т. Ю. Влияние полиморфизма гена ITGB3 на частоту развития артериальной гипертензии у больных с острым коронарным синдромом [Текст] / Т. Ю. Зотова, Г. И. Мяндина, В. А. Фролов, А. Г. Комарова, А. К. Зотов // Клиническая медицина. – 2013. – № 8. – С. 22–24.
6. Cosemans, J. M. E. M. Multiple ways to switch platelet integrins on and off [Text] / J. M. E. M. Cosemans, B. F. Iserbyt, H. Deckmyn, J. W. M. Heemskerk // Journal of Thrombosis and Haemostasis. – 2008. – Vol. 6, Issue 8. – P. 1253–1261. doi: 10.1111/j.1538-7836.2008.03041.x
7. Zhang, Q. Glycoprotein Ia C807T: Polymorphisms and Their Association with Platelet Function in Patients with the Acute Coronary Syndrome [Text] / Q. Zhang, Y. Jin, D. Shi, J. Gong, J. Liu, Y. Lu et. al. // Cardiology. – 2015. – Vol. 132, Issue 4. – P. 213–220. doi: 10.1159/000435906
8. Robert, W. Hemostasis and thrombosis. Basic principles and clinical practice. Fifth edition [Text] / W. Robert, C. V. J. Marder, A. W. Clowes, J. N. George, S. Z. Goldhaber. – Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2006. – P. 494–500.
9. Watson, S. P. GPVI and integrin alphaIIb beta3 signaling in platelets [Text] / S. P. Watson, J. M. Auger, O. J. T. McCarty, A. C. Pearce // Journal of Thrombosis and Haemostasis. – 2005. – Vol. 3, Issue 8. – P. 1752–1762. doi: 10.1111/j.1538-7836.2005.01429.x
10. Гланц, С. М. Медико-биологическая статистика [Текст] / С. М. Гланц. – М.: Практика, 1999. – 459 с.
11. Wu, G. Genetic polymorphism of ITGA2C807T can increase the risk of ischemic stroke [Text] / G. Wu, Y. Xi, L. Yao, L. Su, Y. Yan, M. Li, L. Gu // International Journal of Neuroscience. – 2014. – Vol. 124, Issue 11. – P. 841–851. doi: 10.3109/00207454.2013.879718

*Рекомендовано до публікації д-р мед. наук Нетяженко В.З.  
Дата надходження рукопису 27.07.2017*

**Ляхоцька Ада Володимирівна**, аспірант, кафедра пропедевтики внутрішньої медицини № 1, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, бул. Т. Шевченка, 13, м. Київ, Україна, 01601  
E-mail: a.liakhotska@gmail.com

**УДК 616-056.3:616-022.854]-07-085.37**  
**DOI: 10.15587/2519-4798.2017.109174**

## **АНАЛІЗ ЕФЕКТИВНОСТІ АЛЕРГОІМУНОТЕРАПІЇ У ПАЦІЄНТІВ З АЛЕРГІЄЮ ДО ПИЛКУ ВЕСНЯНИХ ДЕРЕВ**

**© С. О. Зубченко, В. В. Чопяк, С. Д. Юр'єв, О. Ю Губська, С. Р. Маруняк**

*Метою дослідження було вивчення особливостей сенсibilізації до весняних дерев у пацієнтів Львівської області та аналіз ефективності алергоімунотерапії екстрактом весняних дерев. Згідно з результатами досліджень сенсibilізаційний профіль пацієнтів Львівського регіону складався з алергенів пилку дерев родин Betulaceae і Oleaceae. SLIT комбінованою вакциною «Весняні дерева» (Діатер, Іспанія) продемонструвала безпеку та високу ефективність*

**Ключові слова:** сенсibilізаційний профіль, алергени пилку весняних дерев, ясень, сублінгвальна алергоімунотерапія

### **1. Вступ**

Пилкова алергія (від лат. *pollinis* пил, пилко) – хронічне алергічне захворювання, що викликається пилом рослин і проявляється алергічним запаленням слизових оболонок дихальних шляхів із симптомами алергічного риніту (АР), риносинуситу, часто у поєднанні з кон'юнктивітом. Тяжким ускладненням пилкової алергії є бронхіальна астма (БА). Захворювання належить до числа найбільш поширених алергічних захворювань як серед дітей, так і дорослих.

Статистичні дані у різних країнах коливаються в межах від 4,8 до 36 % у дітей і від 2 до 39 % у дорослих [1]. Особливістю дитячого населення є те, що прояви пилкової алергії можуть бути вже на другому році життя, однак захворювання часто залишається не діагнованим. В інших повідомленнях вказується, що у 80 % дітей віком до 10 років з АР виявляють БА [2]. Також існує твердження про гіподіагностику пилкової алергії серед дорослого населення, з огляду на те, що пацієнти з легкою формою до лікарів не